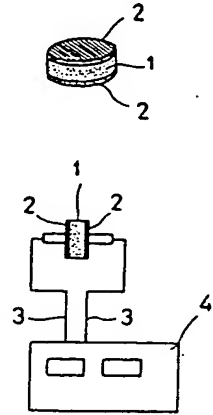


**(54) MOISTURE SENSITIVE MATERIAL AND MOISTURE SENSITIVE ELEMENT**

(11) 3-103762 (A) (43) 30.4.1991 (19) JP  
 (21) Appl. No. 64-242808 (22) 18.9.1989  
 (71) SEKISUI PLASTICS CO LTD (72) KEISHIN OHARA  
 (51) Int. Cl<sup>5</sup>. G01N27/12, H01C7/00

**PURPOSE:** To obtain the moisture sensitive material which is uniformly adjusted in pore size and to well follow up the fluctuation in the humidity of an atmosphere to be measured by electrically interposing the moisture sensitive material between the moisture sensitive material of the sintered body of porous titania and a pair of electrodes.

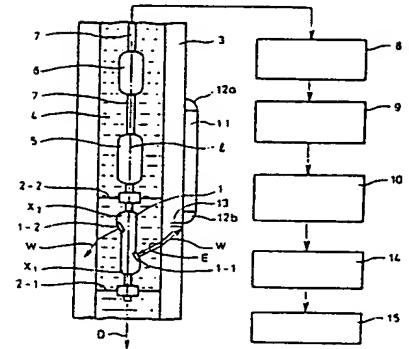
**CONSTITUTION:** The moisture sensitive material is electrically interposed between the moisture sensitive material 1 consisting of the sintered body of the titania formed by aggregating the spherical bodies of resin-coated titania and sintering the same and a pair of the electrodes 2. A pair of the electrodes 2 are formed on both front and rear surfaces of the moisture sensitive material 1 in the form of a thick film and a pair of the electrodes 2 are connected by leads 3 to an AC power source 4 in order to detect the fluctuation in the impedance of this moisture sensitive material 1. The relative humidity in the atmosphere to be measured is determined from the fluctuation in the impedance measured by placing the moisture sensitive element in the atmosphere.

**(54) DEFECT DECIDING METHOD FOR PIPING HARDWARE WELD ZONE**

(11) 3-103764 (A) (43) 30.4.1991 (19) JP  
 (21) Appl. No. 64-242886 (22) 19.9.1989  
 (71) ISHIKAWAJIMA HARIMA HEAVY IND CO LTD  
 (72) MICHIIHIRO NAMURA  
 (51) Int. Cl<sup>5</sup>. G01N29/10

**PURPOSE:** To inspect the weld zone of hardware in a short time by deciding whether or not there is a defect at the weld zone by an ultrasonic probe which moves in boiler piping.

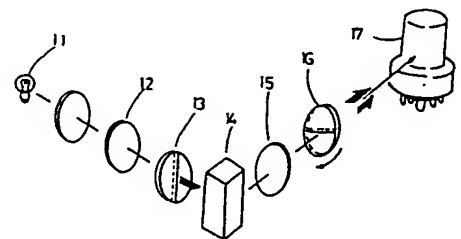
**CONSTITUTION:** The ultrasonic probe 1 which is equipped with a transmission and reception part 1-1 which sends an ultrasonic wave W slantingly to the side of an end X<sub>2</sub> at the side of an end X<sub>1</sub> and a transmission and reception part 1-2 which sends an ultrasonic wave slantingly to the side of the end X<sub>1</sub> at the end X<sub>2</sub> is put in the piping 3 so that the ends X<sub>1</sub> and X<sub>2</sub> are in the direction of the axis I of the piping 3. Then the ultrasonic waves W are sent from the transmission and reception parts 1-1 and 1-2 to specific weld zones 12a and 12b of the hardware 11 welded to the outer periphery of the piping 3. When ultrasonic wave echoes E return to both the transmission and reception parts 1-1 and 1-2, it is decided that there is a defect 13 at the weld zone 12a or 12b.

**(54) IMMUNOASSAY WITH FLUORESCENT POLARIZATION BY USING IMMOBILIZED ANTIBODY OR ANTIGEN**

(11) 3-103765 (A) (43) 30.4.1991 (19) JP  
 (21) Appl. No. 64-243034 (22) 18.9.1989  
 (71) TOYOBO CO LTD (72) MASAO KARUBE(1)  
 (51) Int. Cl<sup>5</sup>. G01N33/542, G01N21/64

**PURPOSE:** To allow the measurement of even the antigen having the mol. wt. equal to or larger than the mol. wt. of an antibody by using a reagent formed by fixing the antibody to a carrier larger in mol. wt. than the antibody as an immobilized antibody.

**CONSTITUTION:** The light from a light source is filtered to the stimulating wavelength of the fluorescent material contained in the reagent by a filter 12 and is projected to a cell 14 contg. the material to be measured via a polarizing plate 13 to stimulate the fluorescence in sample. The dispersed fluorescence transmits a filter 15 which allows the transmission of the wavelength thereof and a polarizing plate 16 and is converted to an electric signal by a photodetector 17. The polarization component of the same direction as the direction of the stimulating polarization and the polarized light component perpendicular thereto with respect to the fluorescence of the sample by the rotation of the polarizing plate 16 are determined, by which the degree of polarization of the fluorescence is determined. A soln. contg. the immobilized antibody is put into a cell 14 and a soln. contg. the measuring antigen is added thereto. A soln. contg. the antigen labeled which the fluorescent material is added thereto. The fluorescent-labeled antigen conjugates with the antibody immobilized with the carrier by the antigen-antibody reaction while competing with the measuring antigen. As result, the concn. of measuring antigen is determined.



⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

平3-103765

⑬ Int.Cl.<sup>8</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 平成3年(1991)4月30日

G 01 N 33/542  
21/64

A 7906-2G  
A 7458-2G

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全5頁)

⑮ 発明の名称 固定化抗体または抗原を用いる蛍光偏光免疫測定法

⑯ 特 願 平1-243034

⑰ 出 願 平1(1989)9月18日

⑱ 発 明 者 梶 部 征 夫 神奈川県川崎市宮前区東有馬1丁目3番16号

⑲ 発 明 者 鶴 岡 誠 滋賀県大津市堅田2丁目1番1号 東洋紡績株式会社総合  
研究所内

⑳ 出 願 人 東洋紡績株式会社 大阪府大阪市北区堂島浜2丁目2番8号

# 明 細 書

## 1. 発明の名称

固定化抗体または抗原を用いる蛍光偏光免疫測定法

## 2. 特許請求の範囲

抗体と比較して分子量の大きな物質に抗体または抗原を固定化した試薬を用いることを特徴とし、該試薬と蛍光標識された抗原または抗体との特異的抗原抗体反応によって、大きな蛍光偏光度の変化が生じることを利用する蛍光偏光免疫測定法。

## 3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は蛍光偏光免疫測定に関するもので、とくに、抗体と同程度以上に分子量の大きな抗原の測定をも可能とする蛍光偏光免疫測定法に関するものである。

(従来の技術)

迅速な免疫測定法として、蛍光偏光免疫測定法が広く用いられている。この方法は、通常、測定

対象とする分子と同一の分子に蛍光物質を標識したもの、およびこの抗原に特異的に結合する抗体の二種を試薬とし、これらをおよび一定の条件で測定対象溶液に加えることによって、測定対象分子の濃度に対応して蛍光偏光度が変化するという原理を用いている。

ここで、上記蛍光偏光度の変化について、さらに説明する。蛍光偏光度Pは、一般の次式のごとく定義される。

$$P = \frac{I_{\parallel} - I_{\perp}}{I_{\parallel} + I_{\perp}}$$

$$\left\{ \begin{array}{l} I_{\parallel} : \text{励起偏光に対して} \\ \quad \text{平行な成分の蛍光の強さ} \\ I_{\perp} : \text{励起偏光に対して} \\ \quad \text{垂直な成分の蛍光の強さ} \end{array} \right.$$

Pは、各パラメータとの間で次の関係がある。

$$\frac{1}{P} = \frac{1}{P_0} + \left( \frac{1}{P_0} - \frac{1}{3} \right) \frac{R T \tau}{V \eta}$$

R	: 気体定数
T	: 絶対温度
$\tau$	: 蛍光物質の蛍光緩和時間
$\eta$	: 溶液の粘度
V	: 分子の実効体積 (分子量×比体積)
P <sub>0</sub>	: T = 0°K のときの P 値

したがって、ある特定の蛍光物質を用い、溶液の温度、粘度を一定とした場合、 $1/P$  は  $1/V$  に比例して変化する。ゆえに蛍光偏光度は、分子の実効体積、すなわち分子量が大きいほど大きな値を示す。これは、蛍光物質の分子量（蛍光物質が他の物質と結合している場合を含む）が大きいほど溶液中でのブラウン運動が緩慢であるため、励起偏光がより保存される（蛍光偏光度が大きい）ことを示している。すなわち、蛍光偏光免疫測定法においては、蛍光物質を標識した抗原分子が抗体と結合することによって見かけ上の分子量が変化し、この変化と対応する偏光度の変化を測定す

ることを基本としている。

（発明が解決しようとする課題）

ところが、抗体として IgG 等を用いる従来法では、IgG の分子量が約 15 万なので、抗体と同程度以上に分子量の大きい（10 万程度以上の）抗原を測定することは困難である。なぜなら、抗原抗体反応前後の見かけ上の分子量変化が小さい、すなわち偏光度の変化が小さいからである。

（課題を解決するための手段）

本発明は抗体と比較して分子量の大きな物質に抗体または抗原を固定化した試薬を用いることを特徴とし、該試薬と蛍光標識された抗原または抗体との特異的抗原抗体反応によって、大きな蛍光偏光度の変化が生じることを利用する蛍光偏光免疫測定法である。

本発明の測定法は具体的には次の方法を含む。

(I) 固定化抗体、蛍光標識抗原および試料中の抗原との特異的抗原抗体反応により生じる蛍光偏光度の変化を測定することにより、試料中の抗原を測定する蛍光偏光免疫測定法において、固定化

抗体として抗体より分子量の大きな担体に抗体を固定化した試薬を用いることを特徴とする蛍光偏光免疫測定法。

(II) 固定化抗原、蛍光標識抗体および試料中の抗原との特異的抗原抗体反応により生じる蛍光偏光度の変化を測定することにより、試料中の抗原を測定する蛍光偏光免疫測定法において、固定化抗原として抗体より分子量の大きな担体に抗原を固定化した試薬を用いることを特徴とする蛍光偏光免疫測定法。

(III) 固定化抗体、蛍光標識抗原および試料中の抗体との特異的抗原抗体反応により生じる蛍光偏光度の変化を測定することにより、試料中の抗体を測定する蛍光偏光免疫測定法において、固定化抗体として抗体より分子量の大きな担体に抗体を固定化した試薬を用いることを特徴とする蛍光偏光免疫測定法。

(IV) 固定化抗原、蛍光標識抗体および試料中の抗体との特異的抗原抗体反応により生じる蛍光偏光度の変化を測定することにより、試料中の抗体

を測定する蛍光偏光免疫測定法において、固定化抗原として抗体より分子量の大きな担体に抗原を固定化した試薬を用いることを特徴とする蛍光偏光免疫測定法。

試料中の抗原を測定する方法のうち、上記(I)の方法を第1図(A)にて示し、上記(II)の方法を第2図(A)にて示す。試料中の抗体を測定する方法のうち、上記(III)の方法を第1図(B)にて示し、上記(IV)の方法を第2図(B)にて示す。

第1図(A)(B)において、1は抗体を固体化する物質（固定化担体）であり、2は1に固定化された抗体である。4は測定対象とする抗原であり、3は測定対象とする抗原に蛍光物質を標識した物質である。7は測定対象とする抗体である。

第2図(A)(B)において、1は抗原を固定化する物質（固定化担体）であり、6は固定化された、測定対象とする抗原と同一の（もしくは同一の抗原決定基をもつ）物質である。4は測定対象とする抗原であり、5は抗体に蛍光物質を標識した物質である。7は測定対象とする抗体である。

第1図(A)において、測定対象である抗原4と蛍光物質を標識した抗原3は競合しつつ固定化担体1に固定化された抗体2と抗原抗体反応により特異的に結合する。固定化担体1は、抗体2に比べて大きな分子量を有するので、抗体と比べて同程度以上の分子量を有する測定対象抗原および蛍光物質を標識した抗原が、固定化抗体と抗原抗体反応により結合する場合でも、該蛍光物質に関して十分な見かけ上の分子量の変化が生じる。この原理により、固定化抗体を用いない従来法による場合と比較して非常に大きな分子量の抗原を測定することが可能となる。

第1図(A)に示す試薬の構成に基づく蛍光偏光免疫測定の一例について説明する。

蛍光偏光測定装置の構成例を第4図に示す。ここで、測定の原理について簡単に説明すると、第4図において、光源から出る光はフィルター12によって試薬に含まれる蛍光物質の励起波長に励光され、偏光板13によって偏光とされる。この励起波長の偏光は被測定物質(サンプル)を入れ

たセル14に投射され、サンプル中の蛍光物質を励起する。励起された蛍光物質は物質に応じた波長の蛍光を免するが、この際ブラウン運動の激しさに応じて、該蛍光は偏光の分散を起こす。該蛍光は、その波長を通過するフィルター15を通過し、偏光板16を通過し、光検知器17によって電気信号に変換される。偏光板16を回転することにより、サンプルの蛍光に対して、励起偏光と同じ向きの偏光成分 $I_{II}$ とこれと垂直の偏光成分 $I_{I\perp}$ を求める。これらの値を用いて、次に示すサンプルの蛍光偏光度 $P$ が求められる。

$$P = \frac{I_{II} - I_{I\perp}}{I_{II} + I_{I\perp}}$$

この場合、蛍光物質または蛍光物質を結合している物質のブラウン運動が激しいほど、 $I_{I\perp}$ は $I_{II}$ に比して大きくなり、すなわち $P$ は小さくなる。

いま、サンプルセル(第4図14)に固定化抗体(第1図(A)1、2)を含む溶液を入れ、測定抗原(第1図(A)4)を含む溶液を加え、続いて蛍光物質を標識した抗原(第1図(A)3)3

を含む溶液を加える。加える固定化抗体(第1図(A)1、2)および蛍光標識抗原(第1図(A)3)の濃度は、測定抗原(第1図(A)4)の測定濃度範囲に応じて適切な値に選定される。さて、蛍光標識抗原(第1図(A)3)は、測定抗原(第1図(A)4)と競合しつつ抗原抗体反応により固定化担体(第1図(A)1)に固定化された抗体(第1図(A)2)と結合する。蛍光標識抗原が固定化抗体と結合する際見かけ上大きな分子量変化が生じるので、結合した量に対応して上述した蛍光偏光度 $P$ の値が求められる。測定抗原の濃度に対応して固定化抗体と結合する蛍光標識抗原の量が定まるのであるから、偏光度 $P$ が求められれば測定抗原の濃度は求められる。

ここで、本発明で用いられる固定化抗体試薬について説明する。固定化抗体は固定化担体に抗体を固定化することにより用意される。固定化の方法としては、吸着法、共有結合法、包埋法または架橋化法などがある。固定化担体としては、ポリスチレン、ナイロン等の樹脂ビーズ、ラテックス

粒子、ガラスビーズやAu、Agなどの金属微粒子を用いることもできる。また、抗体の分子量(18Gの場合は約15万)に比較してより大きな分子量の固定化担体を用いればよいので、この担体は必ずしも球状でなくてもよく、線状や板状のものでもよい。いま、0.22 $\mu$ mのポリスチレンラテックスは、分子量に換算するとおよそ $3 \times 10^6$ の物質であり、18G抗体の分子量 $1.5 \times 10^5$ と比べて約2万倍の分子量を有する。該ラテックス粒子を固定化担体として用いると、上述したように、抗原抗体反応の際大きな蛍光偏光度の変化を得ることができる。そのため、たとえば、18G抗体の分子量(約15万)と比べて同程度あるいはそれ以上の値を有する血清アルブミン(分子量約7万)やIgM(分子量約90万)などの抗原も測定することができる。

また、第2図(A)(B)に示す試薬の構成を用いる場合について説明する。測定方法は上述した方法と同様である。第2図(A)(B)とも固定化抗原を用いる方法である。第2図(A)(B)

とも固定化抗原を用いる方法である。第2図(A)は抗原を測定する場合であり、4は測定抗原、1は固定化担体、6は担体1に対して固定化された測定抗原4と同じ抗原決定基を有する抗原、5は蛍光標識抗体を示す。ここで、固定化抗原(1、6)および測定抗原4は競合しつつ蛍光標識抗体5と特異的に結合する。蛍光標識抗体5は、固定化抗原と結合すると見かけ上大きな分子重量変化を生じるので、上述したように、測定抗原の定量が可能である。

第2図(B)は、抗体を測定する場合であり、7は測定抗体、1は固定化担体、6は担体1に固定化された測定抗体7に対する抗原、5は抗原6に対する蛍光標識した抗体を示す。ここで、測定抗体7および蛍光標識抗体5は競合しつつ固定化された抗原6と特異的に結合する。蛍光標識抗体5は固定化された抗原6と結合すると見かけ上大きな分子重量変化を生じるので、上述したように、測定抗体の定量が可能である。

(発明の効果)

本発明によれば、蛍光偏光免疫測定法において、抗体と同程度あるいはそれ以上の分子重量を有する抗原をも測定可能となるので、実用的にその利益はきわめて大きい。

(図面の簡単な説明)

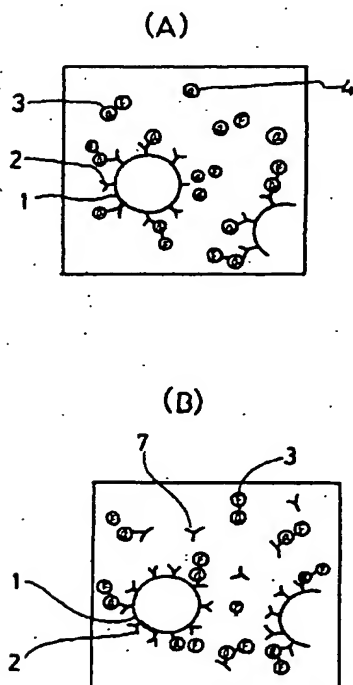
第1図(A)(B)および第2図(A)(B)は、本発明における試薬の構成を示す図である。第1図(A)(B)は固定化抗体を用いる場合の図であり、第2図(A)(B)は固定化抗原を用いる場合の図である。

第3図(A)(B)は、従来法における試薬の構成を示す図で、(A)は抗体を測定する場合、(B)は抗原を測定する場合の図である。

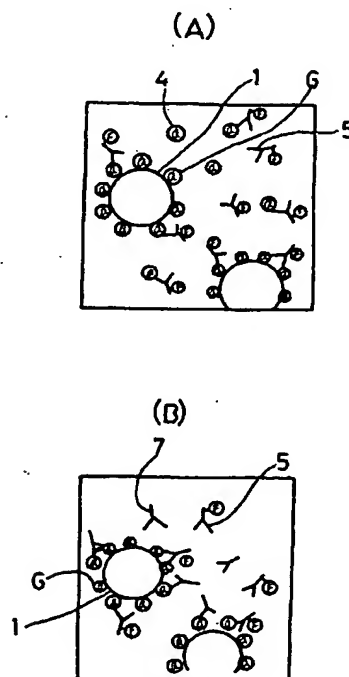
第3図(A)(B)中、3、4、7、8は第1図(A)(B)、第2図(A)(B)と同じである。

第4図は、蛍光偏光測定装置のダイアグラムを示す図である。

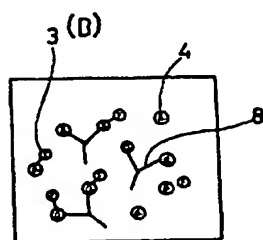
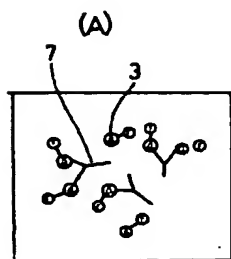
第 1 図



第 2 図



第 3 図



第 4 図

